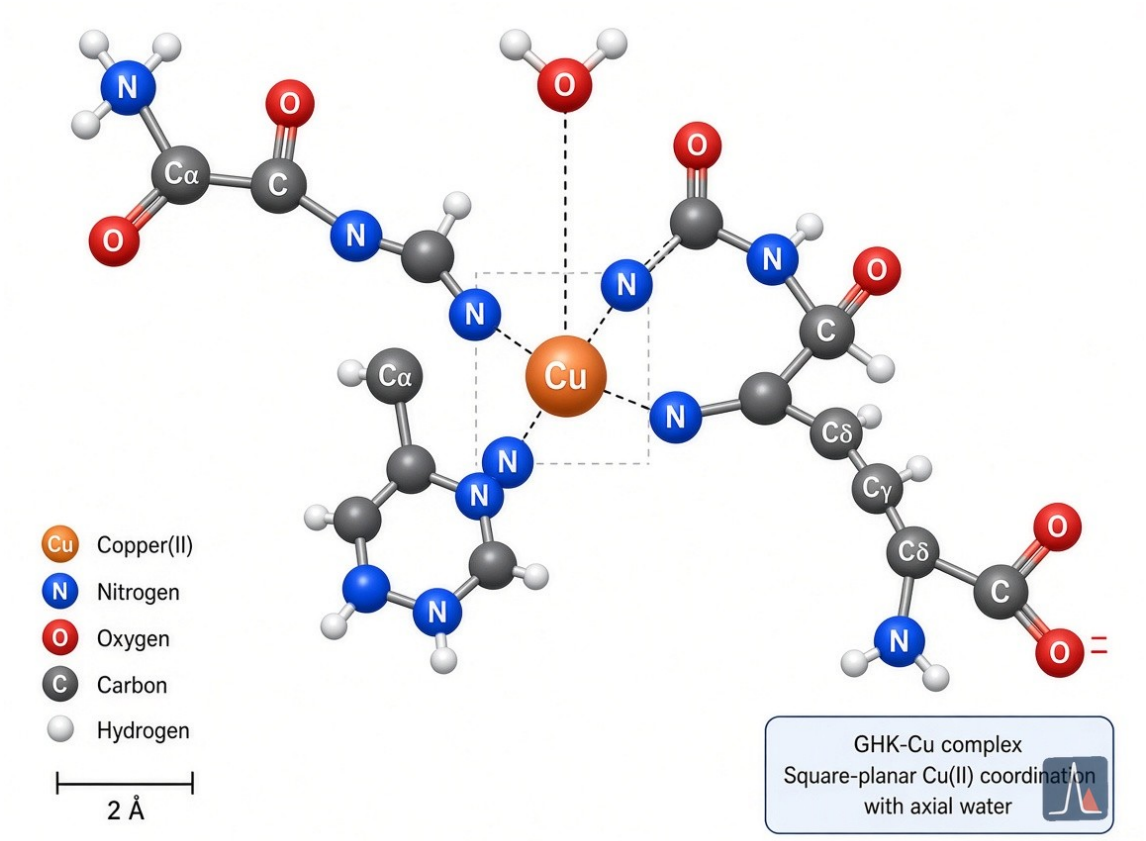
GHK-Cu: identidade química e ensaios publicados

27 de novembro de 2026

O GHK-Cu é o complexo de cobre(II) do tripéptido glicil-L-histidil-L-lisina (GHK; ligando livre $C_{14}H_{24}N_6O_4$, 340,38 Da; complexo □ $C_{14}H_{23}CuN_6O_4^+$,~403 Da, CAS 89030-95-5). Fornecido exclusivamente como GHK-Cu para investi

O GHK-Cu (tripéptido de cobre-1, cobre de prezatida) é o complexo de cobre(II) 1:1 do tripéptido endógeno glicil-L-histidil-L-lisina (GHK ou Gly-His-Lys). O tripéptido livre tem a fórmula $C_{14}H_{24}N_6O_4$ e massa molecular média de 340,38 Da (CAS 49557-75-7, PubChem CID 73587). O complexo de cobre é habitualmente representado como $C_{14}H_{23}CuN_6O_4^+$ ou $C_{14}H_{22}CuN_6O_4$ (MM média □ 401,9–402,9Da, m/z monoisotópico □ 402,11para a espécie de ^{63}Cu, CAS 89030-95-5 para o complexo, PubChem CID 71587328). É fornecido exclusivamente como GHK-Cu apenas para investigação laboratorial. Os materiais neste sítio não são medicamentos nem fármacos. Esta nota resume a identidade química do GHK-Cu e os ensaios publicados utilizados para o caracterizar. A comunicação de dados analíticos publicados ou de resultados de ensaios em humanos não constitui orientação para utilizar qualquer produto Rierink de qualquer forma.



Estrutura molecular do GHK-Cu, com destaque para a geometria de coordenação 3N1O.

Identidade química e contexto de catálogo

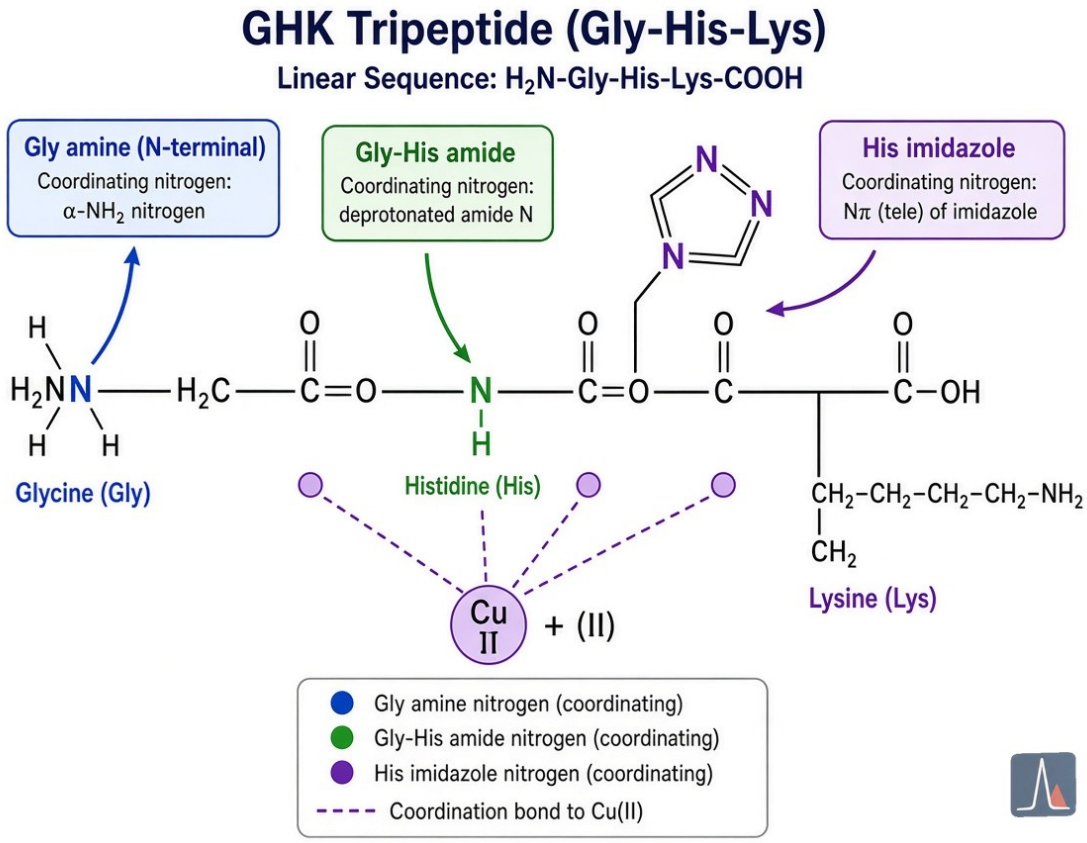
O GHK foi isolado pela primeira vez do plasma humano como fator modulador do crescimento. A interação de elevada afinidade com Cu(II) produz um complexo estável, de cor azul, que tem sido objeto de extensa química de coordenação e de desenvolvimento de métodos analíticos.

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.

No catálogo Rierink situa-se ao lado de outros péptidos e pequenas moléculas de investigação estudados em modelos de remodelação tecidular, redox e sinalização celular (os compostos associados incluem glutationa, NAD, SS-31, ARA-290, Dihexa e FOXO4-DRI). O complexo é tipicamente fornecido como pó liofilizado azul a azul-violeta, frequentemente como sal de acetato, e é fortemente hidrófilo (valores de log D de –2,38 a –2,49 no intervalo de pH 4,5–7,4).

Sequência primária, coordenação do cobre e propriedades físico-químicas

A sequência primária é H-Gly-His-Lys-OH. O cobre(II) é coordenado numa geometria predominantemente quadrado-planar (3N1O) por três átomos de azoto: o azoto α-amino N-terminal da glicina, o azoto amídico desprotonado da ligação peptídica Gly–His e o azoto Nπ do anel imidazólico da histidina. O grupo ε-amino da lisina permanece protonado e disponível a pH fisiológico. No estado sólido, as estruturas de raios X mostram formas poliméricas ou diméricas com pontes de oxigénio carboxilato; em solução aquosa o complexo é predominantemente monomérico, com água a ocupar a quarta posição equatorial e uma posição axial. A cor azul intensa característica resulta da transição d–d (λ_max habitualmente referido perto de 605–640 nm a pH neutro). A constante de estabilidade é elevada (log K □ 16,4), muito superior à de complexos mais simples de Gly-His. O composto é facilmente solúvel em água e em veículos de ácido acético diluído habitualmente utilizados no trabalho laboratorial com péptidos.



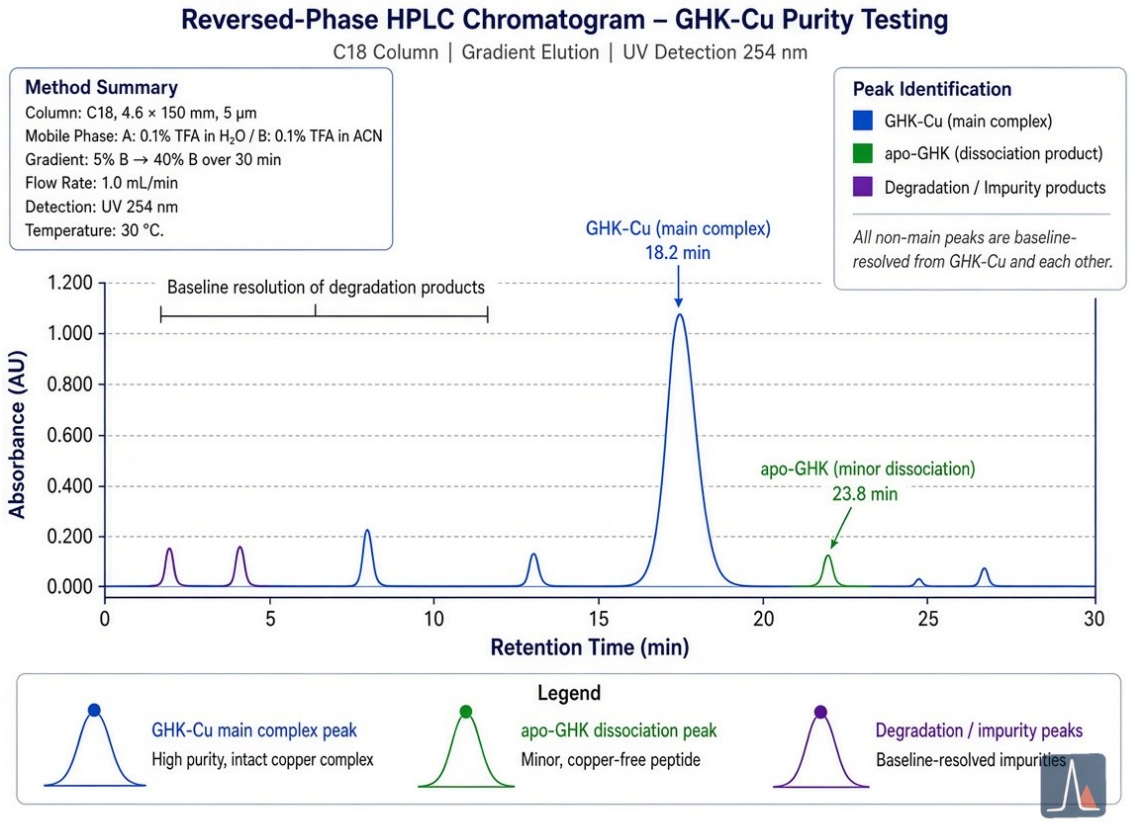
Sequência primária e locais de coordenação do cobre no GHK-Cu.

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.

Ensaios cromatográficos publicados para pureza, impurezas e estabilidade

A cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-HPLC) com deteção UV (mais frequentemente 210–220 nm ou 254 nm) é o método principal para a avaliação da pureza. Os certificados de análise comerciais referem rotineiramente pureza cromatográfica de 98–99,9+% por normalização de áreas em colunas C18, com gradientes de acetonitrilo–água contendo TFA ou ácido fórmico. Uma observação recorrente é a dissociação parcial do complexo em fases móveis ácidas, que produz um pequeno pico adjacente correspondente ao ligando apo-GHK; este comportamento é explicitamente referido em múltiplos relatórios analíticos e não é considerado uma impureza sintética quando a identidade é confirmada ortogonalmente.

Um método de RP-HPLC validado e indicativo de estabilidade foi descrito por Badenhorst et al. (2016). O método quantificou o GHK (após dissociação) e demonstrou cinética de degradação de primeira ordem em condições de stress. O péptido foi mais suscetível à clivagem hidrolítica sob stress básico e oxidativo (peróxido de hidrogénio) e, em menor grau, sob stress ácido. Surpreendentemente, o GHK-Cu foi estável em água e em tampões de pH 4,5–7,4 durante pelo menos duas semanas a 60 °C. A HPLC acoplada a espetrometria de massa identificou três produtos de degradação principais, um dos quais era histidina livre. Métodos alternativos ou complementares incluem a cromatografia líquida de interação hidrófila (HILIC-UV) com tampões de formato de amónio, colunas de modo misto (por exemplo, Primesep 200) e deteção por dispersão de luz evaporativa. Estes ensaios são também utilizados para monitorizar substâncias relacionadas, solventes residuais, contra-iões (acetato), teor de água (Karl Fischer) e compatibilidade com excipientes de formulação, como niossomas.



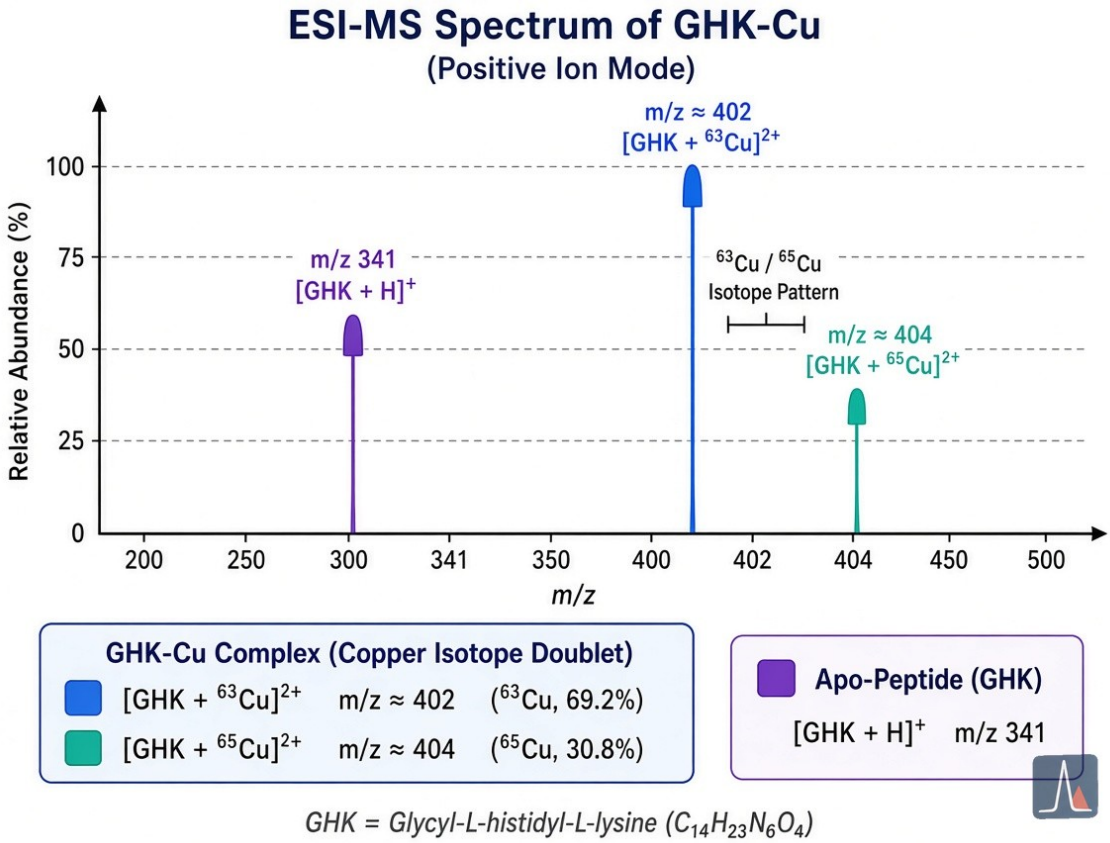
Note: Schematic chromatogram representative of GHK-Cu purity assessment by RP-HPLC.

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.

Perfil representativo de RP-HPLC que ilustra a avaliação da pureza e o comportamento de dissociação.

Ensaios de espetrometria de massa e confirmação isotópica do cobre

A cromatografia líquida–espetrometria de massa (LC-MS) ou a espetrometria de massa por ionização por electrospray direta (ESI-MS) é o pilar da confirmação de identidade. Os espetros mostram habitualmente o apo-péptido protonado em m/z 341,2 ($[GHK+H]^+$), porque o complexo se dissocia facilmente nas condições de ionização típicas. Quando se utilizam condições mais suaves ou parâmetros de fonte específicos, o ião contendo cobre aparece perto de m/z 402,1/404,1. O dupleto isotópico diagnóstico do cobre em abundância natural (^{63}Cu:^{65}Cu ≈ razão 69:31, picos separados por 2 Da) fornece evidência inequívoca de que o cobre está presente na estequiometria correta. As medições de massa exata de alta resolução correspondem tipicamente à massa monoisotópica esperada dentro de 5 ppm. A fragmentação MS/MS pode confirmar ainda a sequência do tripéptido. Os certificados de análise associam quase invariavelmente o resultado de pureza por HPLC a um teste de identidade por LC-MS que inclui a assinatura isotópica do cobre. A análise elementar (ICP-MS ou ICP-OES) é frequentemente utilizada em paralelo para quantificar o teor total de cobre (intervalo de especificação típico de 10–16% em massa, teórico ≈ 15,8%para o complexo anidro 1:1) e, assim, calcular a ocupação metálica.

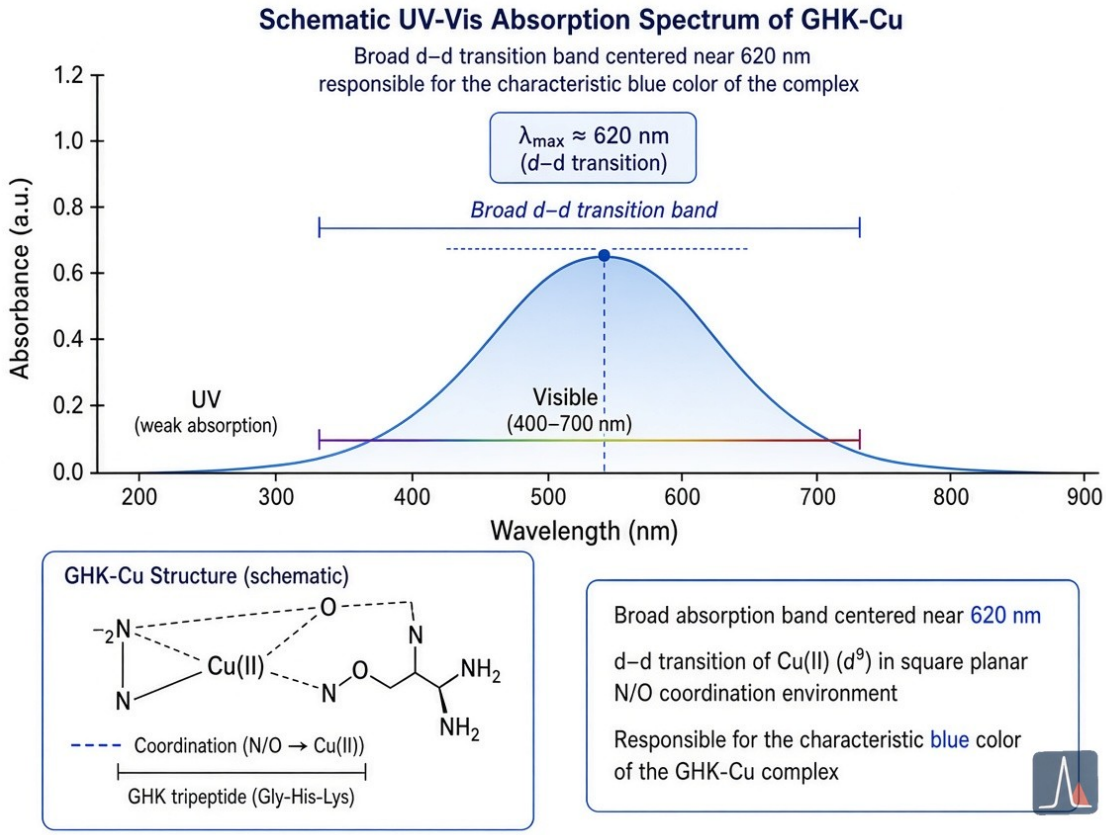


Confirmação por ESI-MS com a assinatura isotópica diagnóstica do cobre.

Caracterização por UV-Vis, EPR, CD, RMN e métodos biofísicos

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.

O complexo intacto de GHK-Cu apresenta uma banda larga de absorção de campo de ligandos (d–d) centrada entre 605 e 640 nm (frequentemente citada perto de 606–630 nm a pH 7,4), responsável pela sua cor azul intensa e que serve como indicador conveniente e não destrutivo de coordenação adequada e de carga de cobre. Esta banda é claramente diferente do espetro do Cu^{2+} aquoso livre (λ_max 810 nm). As transições de transferência de carga ligando-metal aparecem na região do ultravioleta (246nm). A dicroísmo circular (CD) e a espetroscopia de ressonância paramagnética eletrónica (EPR) têm sido amplamente utilizadas para mapear a especiação dependente do pH e confirmar a coordenação equatorial de 3 azotos (estrutura superhiperfina característica em EPR). O trabalho inicial de Freedman et al. (1982) combinou espetroscopias ótica, de EPR e de modulação do envelope de eco de spin eletrónico para demonstrar que, a pH neutro, a espécie dominante é um complexo mononuclear 1:1 com um ligando de azoto imidazólico. Titulações potenciométricas combinadas com deteção espetroscópica definiram constantes de estabilidade e diagramas de especiação, mostrando que a espécie Cu(GHK) fisiologicamente relevante predomina perto de pH 7,4. A RMN em solução tem sido utilizada no péptido sem metal e em análogos diamagnéticos; o Cu(II) paramagnético alarga os sinais no complexo direto. A cristalografia de raios X (Hureau et al., 2011, e estudos anteriores) forneceu a estrutura no estado sólido, revelando dímeros ou polímeros com pontes de oxigénio que se dissociam na espécie monomérica em solução. Estes métodos espetroscópicos e biofísicos ortogonais estabelecem, em conjunto, tanto a estrutura primária como a geometria de coordenação precisa exigida para a forma biologicamente relevante do complexo.



Espetro de UV-Vis que ilustra a banda d-d diagnóstica do complexo de Cu(II).

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.

Contexto da evidência, limitações recorrentes e implicações de catálogo

A literatura analítica sobre o GHK-Cu é madura e abrange química de coordenação (potenciometria, EPR, UV-Vis, CD, raios X), validação de métodos cromatográficos e estudos de estabilidade sob stress. As referências primárias incluem caracterização espetroscópica pormenorizada (Freedman 1982), estudos de equilíbrio e de atividade biológica (Conato 2001), trabalho de pré-formulação e estabilidade (Badenhorst 2016) e comparações estruturais com péptidos relacionados (Hureau 2011). Estes estudos mostram de forma consistente que a caracterização completa exige múltiplas técnicas ortogonais, porque a pureza cromatográfica, por si só, informa sobretudo sobre o ligando orgânico depois de ocorrer dissociação em eluentes ácidos.

As limitações recorrentes incluem a variabilidade entre lotes na ocupação exata de cobre e no teor de contra-ião, a sensibilidade do complexo a redutores fortes ou a pH extremo (que podem remover o cobre ou promover a hidrólise) e o facto de as condições padrão de RP-HPLC ácida não preservarem o metalopéptido intacto. Por isso, o material de catálogo fiável deve ser acompanhado de um certificado de análise que reporte (1) pureza cromatográfica 98%,(2) confirmação por MS incluindo o padrão isotópico do cobre ou correspondência de massa exata, (3) absorvância no visível ou análise elementar de cobre para confirmar a coordenação e a estequiometria, (4) teor de água e de contra-ião e (5) resultados de endotoxinas quando aplicável. Encoraja-se os utilizadores a verificar estes parâmetros à receção e a empregar veículos adequados (por exemplo, ácido acético diluído ou água bacteriostática) para reconstituição laboratorial e armazenamento de curta duração, de acordo com os dados de estabilidade publicados. Tais práticas asseguram resultados reprodutíveis quando o GHK-Cu é utilizado como ferramenta de investigação ao lado de compostos de catálogo relacionados, em modelos celulares, bioquímicos ou de cultura de tecidos.

Fontes

• Badenhorst T, Svirskis D, Wu Z. Physicochemical characterization of native glycyl-l-histidyl-l-lysine tripeptide for wound healing and anti-aging: a preformulation study for dermal delivery. *Pharm Dev Technol*. 2016;21(2):152-160. doi:10.3109/10837450.2014.979944. PMID: 25384620. (RP-HPLC indicativo de estabilidade, cinética de degradação, identificação por MS de histidina e de outros produtos, log D, estabilidade em tampão).
• Freedman JH, et al. Structure of the Glycyl-L-histidyl-L-lysine--copper(II) complex in solution. *Biochemistry*. 1982;21(19):4540-4544. doi:10.1021/bi00262a004. PMID: 6291585. (estudos óticos, de EPR e de eco de spin eletrónico que estabelecem a coordenação em solução).
• Conato C, et al. Copper complexes of glycyl-histidyl-lysine and two of its synthetic analogues: chemical behaviour and biological activity. *Biochim Biophys Acta*. 2001;1526(2):199-210. doi:10.1016/s0304-4165(01)00127-1. PMID: 11325542. (potenciometria, calorimetria, UV-Vis, CD, EPR; constantes de estabilidade e especiação).
• Hureau C, et al. X-ray and solution structures of Cu(II) GHK and Cu(II) DAHK complexes: influence on their redox properties. *Inorg Chem*. 2011. (raios X, EPR, HYSCORE, RMN, comportamento redox).
• Estudos adicionais de especiação, de complexos ternários e teóricos (artigos de 2020–2022 sobre UV-Vis/CD/EPR/potenciometria e modelação DFT da ligação). Exemplos de certificados

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.

de análise de fornecedores combinam de forma consistente pureza por RP-HPLC-UV, identidade por LC-MS com padrão isotópico do Cu e determinação do teor de cobre.

Compostos associados: ghk-cu, glutathione, nad, ss-31, ara-290, dihexa, foxo4-dri.

Fontes

• Physicochemical characterization of native glycyl-l-histidyl-l-lysine tripeptide for wound healing and anti-aging: a preformulation study for dermal delivery, 2016. https://doi.org/10.3109/10837450.2014.979944
• Structure of the Glycyl-L-histidyl-L-lysine--copper(II) complex in solution, 1982. https://doi.org/10.1021/bi00262a004
• Copper complexes of glycyl-histidyl-lysine and two of its synthetic analogues: chemical behaviour and biological activity, 2001. https://doi.org/10.1016/s0304-4165(01)00127-1
• X-ray and solution structures of Cu(II) GHK and Cu(II) DAHK complexes: influence on their redox properties, 2011. https://doi.org/10.1021/ic200969q
• Ternary Cu(II) Complex with GHK Peptide and Cis-Urocanic Acid as a Potential Physiologically Functional Copper Chelate, 2020. https://doi.org/10.3390/ijms21176190

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.